

**PENGARUH PEMBERIAN SUPLEMENTASI BESI (FE) DOSIS TINGGI
TERHADAP HISTOPATOLOGI MUKOSA LAMBUNG PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR BUNTING**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh:

**Dyah Aulia Perwitasari
NIM 155070601111007**

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Singkatan	xiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Zat Besi	5
2.1.1 Fungsi Zat Besi	5
2.1.2 Sumber Zat Besi	5
2.1.3 Absorpsi Besi	6
2.1.4 Ekskresi Zat Besi	7
2.1.5 Kebutuhan Zat Besi Selama Kehamilan	7
2.1.6 Pemberian Suplemen Zat Besi	8
2.1.7 Dosis Suplementasi Besi (Fe)	9
2.1.8 Efek Samping Pemberian Suplemen Zat Besi	10
2.1.9 Zat Besi Dosis Tinggi Menyebabkan Stres Oksidatif ..	10
2.2 Stres Oksidatif	11
2.2.1 Definisi	11
2.2.2 Pembentukan Stres Oksidatif	12
2.2.3 Efek Stres Oksidatif	12

2.3 Lambung	13
2.3.1 Anatomi Lambung	13
2.3.2 Histologi Lambung	14
2.3.3 Kerusakan Lambung	16
2.4 Tikus	17

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep	19
3.2 Keterangan	20
3.3 Hipotesis Penelitian	20

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	21
4.2 Populasi dan Sampel/Subjek Penelitian	21
4.2.1 Besar Sampel	21
4.2.2 Kriteria Sampel	22
4.3 Variabel Penelitian	22
4.3.1 Variabel Bebas (<i>Independent variable</i>)	22
4.3.2 Variabel Terikat	22
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	23
4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian	23
4.5.1 Bahan Penelitian	23
4.5.2 Alat Penelitian	24
4.6 Definisi Operasional	25
4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data	26
4.7.1 Aklimatisasi Hewan Cova	26
4.7.2 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba	26
4.7.3 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba	27
4.7.4 Pembagian Kelompok Penelitian	27
4.7.5 Penentuan Dosis	28
4.7.6 Prosedur Pembuatan Sediaan	29
4.7.7 Prosedur Pemberian Suplementasi Besi (Fe)	29
4.7.8 Prosedur Pengambilan Lambung Tikus	30
4.7.9 Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Lambung Tikus	30
4.7.10 Prosedur Penguburan Hewan Coba	31

4.8 Alur Penelitian	32
4.9 Analisis Data	33
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Hasil Penelitian	34
5.2 Analisis Data	37
5.2.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas	37
5.2.2 Uji One Way ANOVA	37
5.2.3 Uji Post Hoc Tukey	38
5.2.4 Uji Korelasi Pearson	38
5.2.5 Uji Regresi Linear	38
BAB 6 PEMBAHASAN	40
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	43
7.2 Saran	43
Daftar Pustaka	44

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN SUPLEMENTASI BESI (FE) DOSIS TINGGI
TERHADAP HISTOPATOLOGI MUKOSA LAMBUNG PADA TIKUS PUTIH
(*Rattus norvegicus*) STRAIN WISTAR BUNTING**

Oleh:

Dyah Aulia Perwitasari

155070601111007

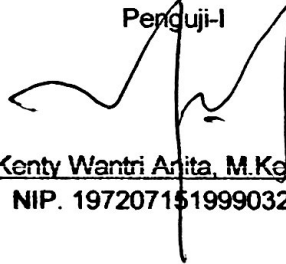
Telah diuji pada

Hari: Kamis

Tanggal: 23 Mei 2019

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I



dr. Kenty Wantri Anita, M.Kes, Sp.PA

NIP. 197207151999032002

Pembimbing-I/Penguji-II



Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes

NIP. 195505121987012001

Pembimbing-II/Penguji-III




Fatmawati, SST., M.Keb

NIK. 2015098005262001

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Kebidanan



Linda Ratna Wati, SST., M.Kes

NIP. 198409132014042001



ABSTRAK

Perwitasari, Dyah Aulia. 2019. ***Pengaruh Pemberian Suplementasi Besi (Fe) Dosis Tinggi Terhadap Histopatologi Mukosa Lambung Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Bunting***. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes (2) Fatmawati, SST., M.Keb.

Latar belakang: Ibu hamil dianjurkan mengkonsumsi tablet tambah darah selama masa kehamilannya atau minimal 90 tablet selama kehamilan. Efek samping dari tablet tambah darah antara lain mual, muntah, diare, sembelit. Apabila dikonsumsi secara berlebihan akan menyebabkan toksisitas karena kelebihan zat besi akan menyebabkan stres oksidatif yang dapat mempengaruhi keadaan lambung. **Tujuan:** mengetahui pengaruh dari pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi terhadap histopatologi mukosa lambung pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar bunting. **Metode:** penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus bunting yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu, kontrol negatif; perlakuan 1 dengan dosis 0,54 mg; perlakuan 2 dengan dosis 1,08 mg; dan perlakuan 3 dengan dosis 2,16 mg. Pemberian suplementasi besi (Fe) dimulai pada hari ke-1 kebuntingan sampai hari ke-18, kemudian pada hari ke-19 tikus dibedah dan organ lambung diambil untuk dijadikan preparat dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) lalu diamati dengan mikroskop cahaya. **Hasil:** penelitian ini menunjukkan hasil histopatologi mukosa lambung mengalami kerusakan pada kelompok perlakuan yang dinilai menggunakan skor Barthel Manja. Hasil uji One Way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari mukosa lambung ($p=0.000$) pada kelompok kontrol dan perlakuan penelitian ini. **Kesimpulan:** Suplementasi besi (Fe) dosis tinggi memiliki pengaruh terhadap histopatologi mukosa lambung.

Kata kunci : Suplementasi besi (Fe), histopatologi mukosa lambung, tikus putih bunting

ABSTRACT

Perwitasari, Dyah Aulia. 2019. ***The Effect Of High Dosage Of Iron Supplementation (Fe) Againsts Histopathology of Gastric Mucosa in Pregnant Strain Wistar White Rats (Rattus norvegicus)***. Final Project, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Advisor: (1) Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes (2) Fatmawati, SST., M.Keb.

Background: Pregnant women are encouraged to consume iron tablets during their pregnancy or at least 90 tablets during pregnancy. Side effects of iron tablets include nausea, vomiting, diarrhea, constipation. If the tablets is consumed in excess it will cause toxicity because excess iron will cause oxidative stress which can affect the state of the stomach. **Purpose:** to determine the effect of high-dose iron (Fe) supplementation on the histopathology of gastric mucosa in pregnant strain Wistar white rats (*Rattus norvegicus*). **Method:** this study used 24 pregnant rats divided into 4 groups, that is, negative controls; treatment 1 with a dose of 0.54 mg; treatment 2 with a dose of 1.08 mg; and treatment 3 with a dose of 2.16 mg. Iron (Fe) supplementation was started from the 1st day of pregnancy until the 18th day, then on the 19th day the rats were dissected and the gastric organ was taken as a preparation with Hematoxylin Eosin (HE) staining and then observed with a light microscope. **Results:** this study showed the histopathological results of gastric mucosa damaged in the treatment group which was assessed using the Barthel Manja score. The One Way ANOVA test results showed a significant difference from gastric mucosa ($p = 0.000$) in the control and treatment groups of this study. **Conclusion:** High doses of iron (Fe) supplementation affect the histopathology of gastric mucosa.

Keywords : Iron Supplementation, histopathology of gastric mucosa, pregnant white rats.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam kehamilan terdapat perubahan fisiologis yang mempengaruhi jumlah sel darah normal selama kehamilan. Peningkatan sel darah merah dan plasma yang tidak seimbang pada kehamilan dapat dilihat dari penurunan kadar hemoglobin (Hb) dan hal ini menyebabkan peningkatan kebutuhan zat besi selama kehamilan. Ibu hamil mengalami anemia apabila kadar hemoglobin ibu $< 11 \text{ gr\%}$ (Nurhidayati, 2013) .

Anemia dalam kehamilan memberi pengaruh pada ibu, baik dalam kehamilan, persalinan, maupun nifas dan masa selanjutnya. Masalah yang dapat timbul akibat anemia adalah keguguran (abortus), kelahiran prematur, persalinan yang lama akibat kelelahan otot rahim dalam berkontraksi (inersia uteri), perdarahan pasca melahirkan karena tidak adanya kontraksi otot rahim (atonie uteri), syok, infeksi baik saat bersalin maupun pasca bersalin, serta anemia yang berat dapat menyebabkan dekompensasi kordis (Wiknjosastro, 2010).

Salah satu upaya pemerintah untuk mencegah anemia akibat kekurangan zat besi dan atau asam folat yaitu dengan pemberian tablet tambah darah pada wanita usia subur dan ibu hamil. Untuk ibu hamil diberikan setiap hari selama masa kehamilannya atau minimal 90 tablet selama masa kehamilannya. Komposisi untuk setiap tablet penambah darah yaitu zat besi yang setara dengan 60 mg besi elemental (dalam bentuk sediaan *Ferro Sulfat*, *Ferro Fumarat* atau *Ferro Gluconat*) dan asam

folat 0,4 mg. Selain dari tablet penambah darah, untuk memenuhi kebutuhan zat besi selama kehamilan bisa didapatkan dari protein hewani seperti hati, ikan dan daging (Permenkes RI No 88 Tahun 2014). Jumlah besi yang dibutuhkan untuk kehamilan dengan janin tunggal yang normal sekitar 1000 mg, 350 mg untuk pertumbuhan janin dan plasenta, 450 mg untuk peningkatan masa sel darah merah ibu, dan 240 mg (Sediaoetama, 2004).

Mengonsumsi tablet tambah darah dapat menimbulkan efek samping pada saluran gastrointestinal pada sebagian orang, seperti rasa tidak enak di ulu hati, mual, muntah dan diare, pada sebagian wanita mengalami sembelit. Apabila kekurangan zat besi menyebabkan anemia dan osteoporosis, sedangkan kelebihan zat besi menyebabkan sirosis, gastritis dan hemolisis (Hidayat, 2008).

Kelebihan zat besi dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas (Perdana, 2015). Pembentukan radikal bebas dapat menyebabkan peningkatan dari *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang menyebabkan terjadinya stress oksidatif. ROS yang berlebihan atau meningkat akan menyebabkan peroksidasi lipid yang dapat mempengaruhi struktur dan fungsi membran. Hal ini berpengaruh terhadap mukosa lambung, dan mengawali terbentuknya lesi di mukosa lambung (Powers and Jackson, 2008).

Karena pentingnya fungsi lambung bagi kesehatan dalam proses pencernaan makanan dan penyerapan nutrisi untuk memenuhi kebutuhan kita dan kelebihan mengonsumsi zat besi dapat menyebabkan kerusakan pada lambung, maka penulis akan melakukan penelitian dengan

mengangkat topik tentang pengaruh pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi terhadap histopatologi mukosa lambung pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar bunting.

1.2 Rumusan Masalah

“Apakah pemberian suplemen besi (Fe) dosis tinggi berpengaruh terhadap histopatologi mukosa lambung pada tikus putih Strain Wistar bunting ?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi berpengaruh terhadap histopatologi mukosa lambung pada tikus putih Strain Wistar bunting.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui pada dosis berapa suplementasi besi (Fe) dapat menyebabkan kerusakan mukosa lambung pada tikus putih Strain Wistar bunting karena suplementasi besi (Fe) dosis tinggi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi data awal untuk penelitian lanjutan tentang suplemetasi besi (Fe) dosis tinggi terhadap histopatologi mukosa lambung.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengalaman dan wawasan peneliti tentang pengaruh pemberian

suplemen besi (Fe) dosis tinggi terhadap histopatologi mukosa lambung pada tikus putih Strain Wistar bunting.

2. Bagi Institusi Terkait

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah kepustakaan ilmu untuk asuhan kebidanan khususnya tentang pilihan dalam masa kehamilan.

3. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan masyarakat tentang pengaruh pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi terhadap histopatologi mukosa lambung.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zat besi

Besi merupakan mineral mikro yang paling banyak terdapat di dalam tubuh manusia dan hewan, yaitu sebanyak 3-5 gram di dalam tubuh manusia dewasa (Almatsier, 2004). Jumlah besi yang dibutuhkan pada kehamilan tunggal yang normal sekitar 1000 mg, 350 mg untuk pertumbuhan janin dan plasenta, 450 mg untuk peningkatan masa sel darah merah ibu, dan 240 mg untuk kehilangan basal (Sediaoetama, 2004).

2.1.1 Fungsi Zat Besi

Zat besi (Fe) sangat dibutuhkan oleh tenaga kerja untuk menunjang aktifitas kerjanya. Di dalam tubuh berperan sebagai alat angkut oksigen dari paru-paru ke jaringan, sebagai alat angkut elektron pada metabolisme energi, sebagai bagian dari enzim pembentuk kekebalan tubuh dan sebagai pelarut obat-obatan. Manfaat lain dalam mengkonsumsi makanan sumber zat besi adalah terpenuhinya kecukupan vitamin A, karena makanan sumber zat besi biasanya merupakan vitamin A (Waryana, 2010).

2.1.2 Sumber Zat Besi

Zat besi bisa bersumber dari makanan hewani, seperti daging, ayam dan ikan. Sumber lainnya adalah telur, kacang-kacangan, sayuran hijau dan beberapa jenis buah (Susiloningtyas, 2012).

Bahan makanan sumber besi menurut Ahmed, 2001 :

Tabel 2.1 Makanan Sumber Zat Besi
Bahan Makanan Kandungan Besi (mg)

Daging	23.8
Sereal	18.0
Kedelai	8.8
Kacang	8.3
Beras	8.0
Bayam	6.4
Hamburger	5.9
Hati sapi	5.2
Susu formula	1.2

Bahan makanan sumber zat besi bisa didapatkan dari produk hewani dan nabati. Besi yang bersumber dari bahan makanan terdiri atas besi heme dan besi non heme. Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa walaupun kandungan besi dalam sereal dan kacang-kacangan relatif tinggi, namun karena bahan makanan tersebut mengandung bahan yang dapat menghambat absorpsi dalam usus, maka sebagian besar besi tidak akan diabsorpsi dan dibuang bersama feses.

2.1.3 Absorpsi besi

Absorpsi besi yang diperoleh dari bahan makanan terjadi di duodenum dan jejunum proksimal. Besi diserap duodenum dalam bentuk fero dan suasanaanya asam, tingkat keasaman lambung dapat mempengaruhi kelarutan dan penyerapan zat besi dalam tubuh, penyerapan besi di usus akan optimal pada pH 6.75. Proses absorpsi

besi dibagi menjadi 3 fase, yaitu fase luminal yang pada fase ini makanan dibagi menjadi 2 bentuk, yaitu besi hem dan non hem, fase mukosal dimana pada fase ini terjadi penyerapan aktif dan kompleks yang istilahnya mukosal blok (mekanisme yang dapat mengatur penyerapan besi melalui mukosa usus) dan fase korporeal yaitu proses transportasi besi dalam sirkulasi, utilitasi besi oleh sel-sel yang memerlukan, serta penyimpanan besi oleh tubuh. Setelah diserap, besi melewati bagian basal epitel usus, memasuki kapiler usus, kemudian dalam darah diikat oleh apotransferin menjadi transferrin (Bakta, 2006).

2.1.4 Ekskresi Zat Besi

Tubuh tidak dapat mengatur keseimbangan zat besi melalui ekskresi, hal ini berbeda dengan mineral lainnya, besi dikeluarkan dari dalam tubuh antara 1,0-1,5mg perharinya melalui rambut, kuku, keringat, air kemih dan yang paling banyak melalui *deskuamasi* sel epitel pencernaan, berbeda dengan wanita yang sedang mengalami menstruasi atau hamil, setiap harinya besi dikeluarkan dari dalam tubuh sebanyak $\pm 0,5-0,1$ mg (Soeparman, 1990).

2.1.5 Kebutuhan Zat Besi Selama Kehamilan

Selama kehamilan kebutuhan akan zat-zat akan meningkat untuk memenuhi kebutuhan janin. Kebutuhan zat besi akan meningkat pada trimester dua dan tiga yaitu sekitar 6,3 mg perhari. Untuk memenuhi kebutuhan zat besi ini dapat diambil dari cadangan zat besi dan peningkatan adaptif penyerapan zat besi melalui saluran cerna. Apabila cadangan zat besi sangat sedikit atau tidak ada sama

sekali sedangkan kandungan dan serapan zat besi dari makanan sedikit, maka pemberian suplemen sangat diperlukan untuk memenuhi kebutuhan zat besi pada ibu hamil (Arisman, 2010).

Kebutuhan zat besi menurut Waryana (2010) adalah sebagai berikut:

- 1) Trimester I : Kebutuhan zat besi ± 1 mg/hari, (kehilangan basal 0,8 mg/hari) ditambah 30-40 mg untuk kebutuhan janin dan sel darah merah.
- 2) Trimester II : Kebutuhan zat besi ± 5 mg/hari, (kehilangan basal 0,8 mg/hari) ditambah kebutuhan sel darah merah 300 mg dan conceptus 115 mg.
- 3) Trimester III : Kebutuhan zat besi ± 5 mg/hari, (kehilangan basal 0,8 mg/hari) ditambah kebutuhan sel darah merah 150 mg dan conceptus 223mg.

Penyerapan besi dipengaruhi oleh banyak faktor. Protein hewani dan vitamin C meningkatkan penyerapan. Kopi, teh, garam kalsium, magnesium dapat mengikat Fe sehingga mengurangi jumlah serapan. Karena itu sebaiknya tablet Fe ditelan bersamaan dengan makanan yang dapat memperbanyak jumlah serapan, sementara makanan yang mengikat Fe sebaiknya dihindarkan, atau tidak dimakan dalam waktu bersamaan. Disamping itu, penting pula diingat bahwa tambahan zat besi sebaiknya diperoleh dari makanan.

2.1.6 Pemberian Suplemen Zat Besi

Salah satu upaya pemerintah untuk mencegah anemia akibat kekurangan zat besi dan atau asam folat yaitu dengan pemberian

tablet tambah darah pada wanita usia subur dan ibu hamil. Untuk ibu hamil diberikan setiap hari selama masa kehamilannya atau minimal 90 tablet selama masa kehamilannya. Komposisi untuk setiap tablet penambah darah yaitu zat besi yang setara dengan 60 mg besi elemental (dalam bentuk sediaan *Ferro Sulfat*, *Ferro Fumarat* atau *Ferro Gluconat*) dan asam folat 0,4 mg. Selain dari tablet penambah darah, untuk memenuhi kebutuhan zat besi selama kehamilan bisa didapatkan dari protein hewani seperti hati, ikan dan daging (Permenkes RI No 88 Tahun 2014).

2.1.7 Dosis Suplementasi Besi (Fe)

Dosis terendah dari zat besi untuk pencegahan defisiensi besi dan anemia defisiensi besi pada kehamilan telah diteliti, ditemukan bahwa pada wanita denmark suplemen 40mg zat besi ferrous /hari dari 18 minggu kehamilan tampaknya cukup untuk mencegah defisiensi zat besi pada 90% perempuan dan 95% pada perempuan dengan anemia besi selama kehamilan dan post partum.

Tabel 2.2 Dosis Toksik Iron

Dosis	Tingkat Keracunan
>20 mg/kgBB	Ringan-Sedang
>60 mg/kgBB	Toksik Berat
>150 mg/kgBB	Toksik Letal

Keterangan: panduan kasar untuk dosis beracun zat besi (Mc Crea, dkk, 2013)

Yang dikatakan dengan dosis tinggi dari suplementasi besi (Fe) adalah dosis yang melebihi dosis normal yang diberikan oleh pemerintah yaitu >60mg/kgBB.

2.1.8 Efek Samping Pemberian Suplemen Zat Besi

Suplemen oral zat besi dapat menyebabkan mual, muntah, kram lambung, nyeri ulu hati, dan konstipasi (kadang-kadang diare). Namun derajat mual yang ditimbulkan tergantung pada jumlah zat besi yang diserap. Dosis zat besi di atas 60 mg dapat menimbulkan efek samping yang tidak dapat diterima oleh ibu hamil (Sue Jordan, 2014).

Kelebihan zat besi dapat mengakibatkan sirosis, gastritis dan hemolisis (Hidayat, 2008). Selain itu dapat menyebabkan kematian sel karena pembentukan radikal bebas (Perdana, 2015), menurut Widowati (2008) apabila mengkonsumsi zat besi secara berlebihan atau dosis tinggi karena obat atau makanan yang difortifikasi zat besi dapat menyebabkan toksisitas dan kematian pada anak-anak yang berusia kurang dari 6 tahun. Gejala dari toksisitas yaitu muntah disertai dengan darah. Terjadi ulserasi pada organ pencernaan yang diikuti dengan gejala shock dan asidosis, kerusakan hati, gagal ginjal dan serosis hati.

2.1.9 Zat Besi Dosis Tinggi Menyebabkan Stres Oksidatif

Suplemen zat besi selama kehamilan meningkatkan status zat besi ibu selama kehamilan termasuk hemoglobin, serum besi, MCV, saturasi transferrin, dan serumferritin. *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) merupakan senyawa oksigen yang sangat reaktif dan dampak negatifnya timbul karena aktivitasnya ketika berikatan dengan logam transisi yang mampu mengubah valensi seperti besi, $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ menjadi radikal hidroksil yang terbentuk dari oksigen

melalui reaksi foton, radikal bebas ini memiliki potensi merusak sel, jaringan dan organ yang ada dalam tubuh. Radikal hidroksil merupakan senyawa radikal yang paling berbahaya karena mempunyai tingkat reaktivitas sangat tinggi. Radikal hidroksil dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel, yaitu asam lemak tak jenuh, DNA dan protein (Halliwell & Gutteridge, 2001).

2.2 Stres Oksidatif

2.2.1 Definisi

Stres oksidatif juga didefinisikan sebagai suatu kondisi dimana terjadi peningkatan level *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). ROS merupakan jenis radikal bebas yang paling banyak terdapat dalam sistem biologis tubuh, radikal bebas tersebut berasal dari oksigen yang memiliki beberapa jenis seperti anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), radikal hidroksil ($\bullet OH$), radikal alkoksil ($RO\bullet$) dan radikal peroksil ($ROO\bullet$) (Halliwell & Gutteridge, 2001). Normalnya ROS berperan dalam berbagai proses fisiologis seperti sistem pertahanan, biosintesis hormone, fertilisasi dan sinyal seluler. Tetapi, peningkatan produksi ROS yang dikenal dengan kondisi stress oksidatif memiliki dampak pada berbagai penyakit (Paravicini and Touyz, 2008).

ROS yang meningkat di dalam tubuh akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan suatu kondisi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan antioksidan sebagai sistem pertahanan di dalam tubuh yang akan menghasilkan kerusakan oksidatif seperti peroksidasi lipid.

Terjadinya peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan pada mukosa lambung (Powers and Jackson, 2008).

2.2.2 Pembentukan Stres Oksidatif

Stres oksidatif terjadi ketika jumlah radikal bebas melebihi antioksidan, hal tersebut menyebabkan jumlah radikal bebas menjadi berlebihan dan akan bereaksi dengan lemak, protein, dan asam nukleat seluler. Terjadinya gangguan keseimbangan antara produksi oksidan dan pertahanan antioksidan atau destruksi oleh ROS seperti anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^\bullet), hydrogen peroksida (H_2O_2), radikal nitrit oksida (NO^\bullet) dan peroksinitrit ($ONOO^\bullet$) akan menyebabkan terbentuknya stress oksidatif. Ketika ROS mengalami peningkatan maka akan menimbulkan kerusakan pada DNA dan biomolekul lainnya sehingga dapat merusak fungsi normal sel dan menyebabkan penuaan serta berbagai penyakit (Halliwell & Gutteridge, 2001).

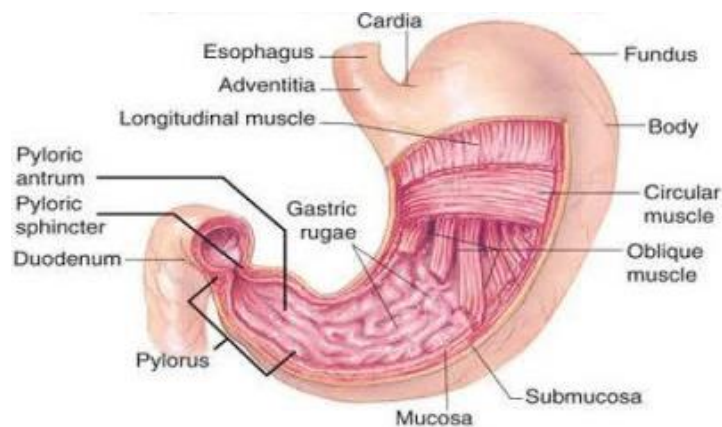
2.2.3 Efek Stres Oksidatif

Inflamasi merupakan salah satu dari banyak efek yang terjadi karena stres oksidatif, karena secara molekuler radikal bebas yang tinggi dapat mengaktifkan faktor-faktor transkripsi yang sensitif dengan reaksi redoks sehingga dapat memicu reaksi kaskade inflamasi dan peningkatan radikal bebas. Selain itu, ROS yang meningkat akan merusak lipid seluler, protein maupun DNA dan menghambat fungsi normal sel (Suardana, 2012).

2.3 Lambung

2.3.1 Anatomi Lambung

Lambung merupakan organ yang berbentuk kantong dan menyerupai huruf “J” yang memiliki fungsi untuk mencerna makanan yang kemudian akan dikeluarkan menuju duodenum (Floch, 2010). Lambung terbagi atas daerah cardia, fundus, corpus, antrum-piloric dan pilorus. Kardia adalah bagian kecil dari lambung yang terletak di distal tepat di bawah spinkter esofagus bawah yang tidak mensekresi asam. Fundus adalah bagian dari lambung yang terletak di atas lubang esofagus. Korpus atau body adalah bagian tengah atau utama lambung (Sherwood, 2011). Corpus atau body ini merupakan lubang penyimpanan dan bagian terbesar untuk mencerna makanan.



Gambar 2.1 Anatomi Lambung

2.3.2 Histologi Lambung



Gambar 2.3 Histologi Lambung (Mescher, 2011)

Keterangan : (M) = Mukosa, (SM) = Sub-Mukosa, (ME) = Muskularis eksterna, (S) = Serosa, (V) = Vena (Mescher,2010)

Menurut Sherwood (2011) menyatakan bahwa lambung memiliki beberapa lapisan jika ditinjau dari histologisnya. Lapisan-lapisan tersebut adalah :

a. Tunika mukosa

Lapisan mukosa merupakan lapisan terdalam lambung, tersusun atas lipatan-lipatan longitudinal yang disebut “rugae”. Epitel yang melapisi lapisan ini adalah epitel selapis silindris yang menghasilkan mukus. Intinya berbentuk bulat dan lonjong di dekat bagian basal dan mengandung granula mukosa. Pada bagian apikalnya memiliki vili pendek dengan bagian ujungnya dilengkapi filamen-filamen halus dari glikokaliks yang jarang. Lamina propria terdiri dari anyaman longgar serat retikuler dan kolagen serta sedikit elastin. Selain itu, anyaman ini

mengandung limfosit, eosinofil, sel mast, dan beberapa sel plasma.

b. Tunika sub-mukosa

Lapisan submukosa tersusun atas jaringan areolar longgar yang menghubungkan lapisan mukosa dan lapisan muskularis. Jaringan areolar pada lapisan submukosa memungkinkan mukosa bergerak dengan gerakan peristaltik. Lapisan ini juga mengandung plexus saraf, pembuluh darah, dan saluran limfe.

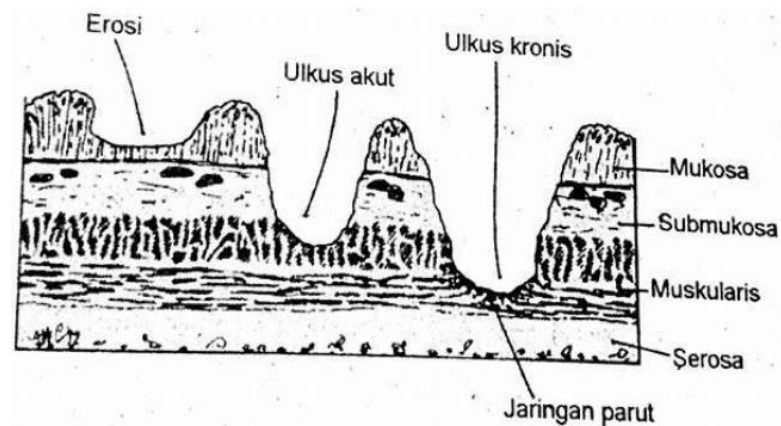
c. Tunika muskularis

Tunika muskularis tersusun atas tiga lapisan otot polos. Lapisan yang paling luar adalah lapisan longitudinal, lapisan sirkular di bagian tengah dan lapisan oblik di bagian dalam. Susunan serat otot pada lapisan ini memungkinkan terjadi kombinasi kontraksi untuk memecah makanan menjadi partikel yang kecil, mengaduk dan mencampur makanan tersebut dengan cairan lambung, dan mendorong ke arah duodenum dengan kontraksi.

d. Tunika serosa

Tunika serosa lambung merupakan lapisan paling luar dari lambung, yang merupakan bagian dari peritoneum visceralis.

2.3.3 Kerusakan Lambung



Gambar 2.4 Tingkat kerusakan (Price dan Lorraine, 2006)

Kerusakan dari lambung sendiri ada bermacam-macam, yaitu gastritis yang bersifat akut, kronik, difus atau lokal, yang paling sering terjadi gastritis superfisial akut dan atrofik kronik. Selain gastritis bisa juga terjadi tukak peptik.

Pada gastritis superfisial, mukosanya berwarna kemerahan, terdapat eodema, dan ditutupi oleh mukosa adheren; seriang terjadi erosi tapi hanya sedikit dan juga terjadi perdarahan. Sedangkan gastritis kronik merupakan faktor predisposisi munculnya tukak lambung dan karsinoma.

Tukak peptik merupakan keadaan terputusnya kontinuitas mukosa yang meluas di bawah epitel. Terputusnya mukosa yang tidak meluas di bawah epitel disebut dengan erosi. Tukak kronik berbeda dengan tukak akut, pada tukak akut terdapat jaringan parut (Price dan Lorraine, 2006).

2.4 Tikus Putih



Gambar 2.2 Tikus Putih Galur Wistar

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar menurut Myers & Armitage (2004):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Sub-Famili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>
Galur/Strain	: Wistar

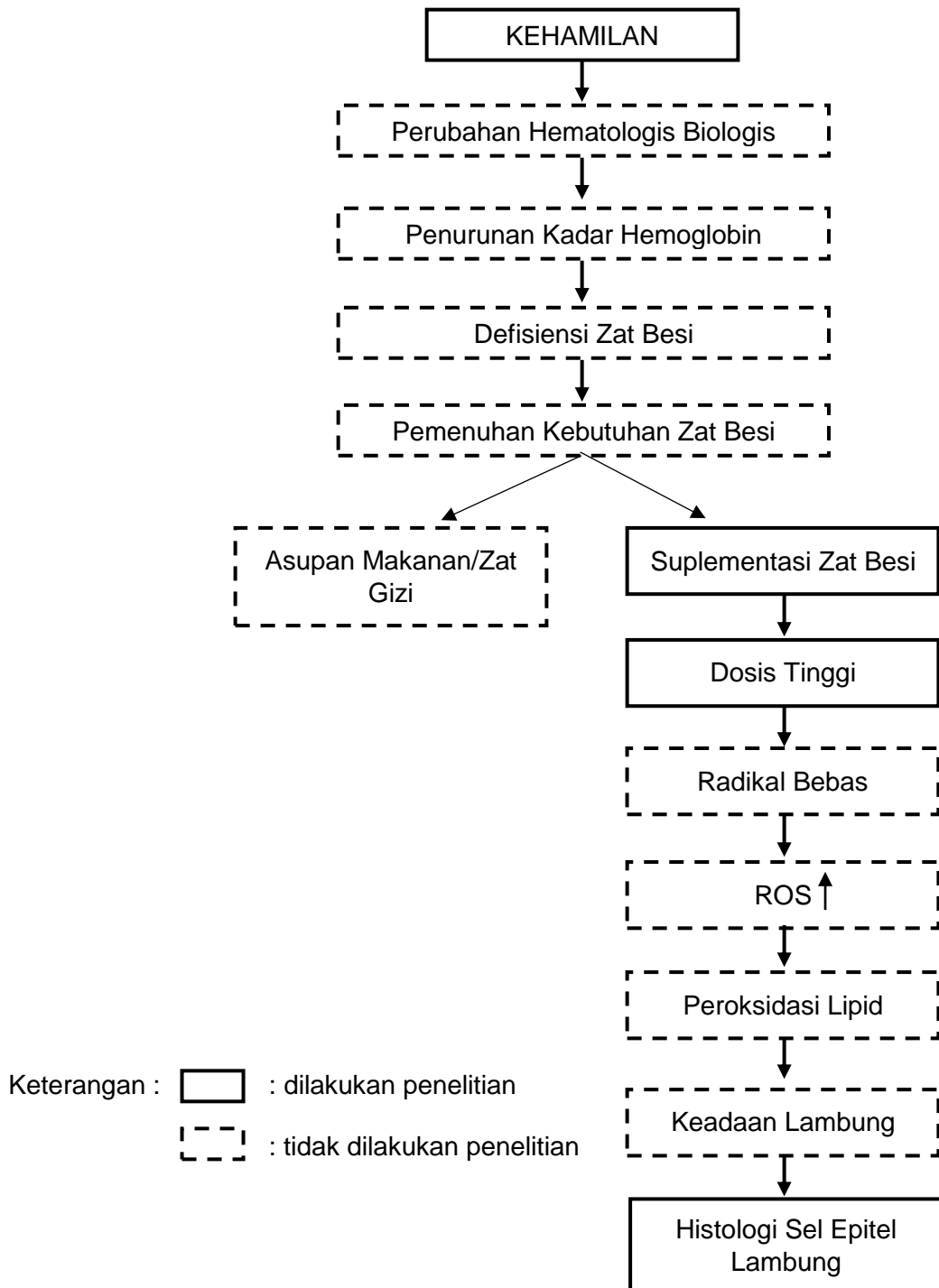
Ciri-ciri galur Wistar, yaitu bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga tebal dan pendek dengan rambut halus, mata berwarna merah, dan ekornya tidak pernah lebih panjang dari tubuhnya. Bobot badan tikus jantan pada umur dua belas minggu mencapai 240 gram sedangkan betinanya mencapai 200 gram. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267-500 gram dan betina 225-325

gram. Galur ini berasal dari peternakan Institut Wistar pada tahun 1906 (Sirois, 2005).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



3.2 Keterangan

Dalam kehamilan terdapat perubahan fisiologis yang mempengaruhi jumlah sel darah normal selama kehamilan. Peningkatan sel darah merah dan plasma yang tidak seimbang pada kehamilan dapat dilihat dari penurunan kadar hemoglobin (Hb) dan hal ini menyebabkan peningkatan kebutuhan zat besi selama kehamilan. Ibu hamil mengalami anemia apabila kadar hemoglobin ibu <11 gr%. Untuk memenuhi kebutuhan zat besi selama kehamilan tersebut dapat dengan asupan makanan atau zat gizi dan dari pemerintah sendiri menganjurkan ibu hamil untuk mengkonsumsi suplemen zat besi minimal 90 tablet selama masa kehamilannya. Komposisi untuk setiap tablet penambah darah yaitu zat besi yang setara dengan 60 mg besi elemental (dalam bentuk sediaan *Ferro Sulfat*, *Ferro Fumarat* atau *Ferro Gluconat*) dan asam folat 0,4 mg.

Kelebihan zat besi dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas (Perdana, 2015). Pembentukan radikal bebas dapat menyebabkan peningkatan dari *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang memicu stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan suatu kondisi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan antioksidan sebagai sistem pertahanan di dalam tubuh yang akan menghasilkan kerusakan oksidatif seperti peroksidasi lipid. Terjadinya peroksidasi lipid berpengaruh terhadap mukosa lambung, dan mengawali terbentuknya lesi di mukosa lambung (Powers and Jackson, 2008).

3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi berpengaruh terhadap histopatologi mukosa lambung pada tikus putih strain wistar bunting.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Peneitian

Rancangan penelitian ini menggunakan *experimental laboratories (true experiment)* dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*.

4.2 Populasi dan Sampel/Subjek Peneitian

4.2.1 Besar sampel

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer (Supranto, 2000) sebagai berikut :

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

n : jumlah tikus tiap kelompok perlakuan

t : jumlah kelompok perlakuan

Pada penelitian ini $t = 4$ sehingga jumlah tikus tiap kelompok perlakuannya adalah:

$$(n-1) (4-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15 : 3$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan perhitungan di atas didapatkan 6 ekor tikus untuk masing-masing kelompok perlakuan, sehingga keseluruhan sampelnya $6 \times 4 = 24$ ekor tikus. Untuk menghindari kriteria eksklusi seperti tikus mati selama penelitian berlangsung atau tikus tidak bunting dalam jangka waktu panjang selama penelitian

berlangsung maka tiap kelompok perlakuan dan kelompok kontrol akan ditambahkan masing-masing 6 ekor tikus sehingga tiap kelompok terdiri dari 12 ekor tikus dan jumlah seluruh sampel adalah $12 \times 4 = 48$ ekor tikus.

4.2.2 Kriteria Sampel

4.2.2.1 Kriteria Inklusi

- a.) Tikus betina spesies (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar.
- b.) Usia minimal 8-10 minggu.
- c.) Berat tikus 150-250 gram.
- d.) Kondisi sehat yang ditandai dengan gerakan aktif dan warna bulu putih bersih.
- e.) Bunting.

4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

- a.) Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung.
- b.) Tikus yang tidak bunting dalam jangka waktu panjang selama penelitian berlangsung.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas (*Independent variable*)

Dosis pemberian suplementasi besi (Fe).

4.3.2 Variabel Terikat

Histopatologi mukosa lambung yang diberi suplementasi besi (Fe).

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Dilakukan estimasi kurang lebih 3-4 bulan. Dengan rincian 1 minggu beradaptasikan terhadap kondisi ruang penelitian dan 11 minggu untuk waktu perlakuan, dilanjutkan pembuatan preparat lambung, kemudian dilanjutkan pengolahan dan analisa data.

4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Bahan untuk pemeliharaan hewan coba

Makanan hewan coba adalah makanan ternak berupa campuran pellet dan tepung, dan minuman hewan coba adalah air yang sesuai dengan standart pemeliharaan hewan coba. Hewan coba dipelihara dalam kandang ukuran 29,5x21,5 cm yang diberi sekam dan ditutup dengan kawat kassa.

2. Bahan untuk perlakuan hewan coba

Suplementasi besi (Fe) yang dilarutkan dengan CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*).

3. Bahan untuk membuat preparat

Organ yang akan dibuat preprat, buffer formalin 10%, acetone, xilol, ethanol absolut, alkohol 90%, alkohol 80%, parafin, tissue casset, object glass, H₂O₂, methanol, larutan decloaking, Phospat Buffer Saline, akuades, background sniper, anti bodi primer, anti

bodi sekunder, trekavidin-HRP, Betazoid Dab substrat buffer, DAB Chromogen, Mayer Hematoxilen, Entellan, Cover glass.

4.5.2 Alat Penelitian

1. Alat untuk pemelihara hewan coba
 - a. Kandang tikus yang berupa box plastik berukuran 29,5x21,5cm sebanyak 24 buah diisi dengan sekam sebagai alas dan ditutup dengan kawat kassa.
 - b. Tempat makan dan minum.
2. Alat untuk pemberian Fe pada hewan coba
 - a. Sduit
 - b. Sonde
3. Alat pengambilan lambung tikus
 - a. Handscoon
 - b. Papan bedah
 - c. Pinset
 - d. Pisau bedah (*scalpel*)
 - e. Needle.
4. Alat untuk membuat preparat

Pisau microtome, microtome, waterbath, inkubator, Pap pen, Decloaking Chamber, mikroskop, mikropipet, pinset, bunsen, teko alumunium, basket jaringan, wadah kaca bertutup rapat.

4.6 Definisi Operasional

1. Hewan Coba

Hewan coba ialah tikus (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar bunting yang berusia 8-10 minggu dengan berat 150-250 gram.

2. Tikus Bunting

Tikus yang sudah dikawinkan dan memiliki sumbatan pada vaginanya atau vaginal plug.

3. Suplementasi besi (Fe)

Suplementasi besi (Fe) yang digunakan adalah jenis ferrous ferosus yang telah dilarutkan dengan akuades dan CMC, kemudian diberikan peroral menggunakan sonde pada kelompok tikus bunting. Dosis yang akan diberikan yaitu 30, 60, dan 120 mg yang sebelumnya akan di konversikan menjadi dosis hewan. Dosis awal yang akan diberikan adalah 30mg dimana dosis ini lebih rendah 30mg dibawah dosis standar yang diberikan pada ibu hamil, sedangkan dosis kedua yaitu 60mg merupakan dosis standar yang diberikan kepada ibu hamil, dan dosis yang ketiga adalah 120mg yang merupakan dosis tertinggi pada perlakuan. Pemberian Fe dimulai sejak hari pertama kebuntingan hingga hari ke-18.

4. Histopatologi Mukosa Lambung

Histopatologi mukosa lambung yang dilihat secara mikroskopis dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX 51 dan *software Scan Dot Slide OlyVIA* dengan perbesaran 400x dalam 5 lapang pandang secara acak.

Integritas epitel mukosa diamati dan diberikan penilaian berdasarkan modifikasi skor Barthel Manja (Manja, 2003).

Tabel 4.1 Skor Integritas Epitel Mukosa

Skor	Integritas Epitel Mukosa
0	Tidak Ada perubahan patologis
1	Deskuamasi epitel
2	Kerusakan 1-10 sel epitel
3	Kerusakan > 10 sel epitel

4.7 Prosedur Penelitian/ Pengumpulan Data

4.7.1 Aklitimasitasi Hewan Coba

Aklitimasitasi hewan coba dilakukan selama tujuh hari terhadap kondisi lingkungan, makanan, minum dan suhu ruangan. Adaptasi dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya.

4.7.2 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba ditempatkan pada kandang dengan ukuran besar 29,5 x 21,5 cm ditutup dengan kawat kassa dalam keadaan bersih, sirkulasi udara, pencahayaan yang baik dan dijauhkan dari keramaian. Pembersihan kandang dan penggantian sekam dilakukan dua kali dalam seminggu. Kandang ditempatkan di dalam ruangan dengan suhu ruangan, sirkulasi udara dan pencahayaan sesuai dengan standart hewan coba. Tikus memperoleh makanan berupa diet normal dengan pakan ternak berupa campuran pellet dan tepung 40 gram/hari, dan minuman sesuai standart

pemeliharaan hewan coba di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.7.3 Prosedur Pembuntingan Hewan Coba

Proses pembuntingan Tikus putih ini dilakukan dengan menggabungkan tikus jantan dan tikus betina dalam 1 kandang dengan perbandingan 1:2. Pembuntingan dilakukan pada malam hari yaitu saat berlangsungnya fase estrus dimana terdapat keinginan tikus jantan dan betina untuk kawin.

Pada keesokan pagi setelah tikus disatukan, dilakukan pengamatan di daerah vagina pada tikus betina. Sumbat vagina (*copulatory plug* atau vagina plug) yaitu sumbat kekuningan pada vagina yang merupakan campuran sekret betina dengan ejakulat jantan yang mengeras (Silvia, 2011). Apabila terdapat *plaque* maka dihitung hari pertama kebuntingannya. Tikus putih yang sudah bunting dimasukkan ke dalam kandang yang terpisah dengan tikus putih yang belum bunting dan diberi tanda untuk selanjutnya diberi perlakuan. Sedangkan untuk tikus putih yang belum bunting dicampur kembali ke dalam kandang berisi tikus putih jantan.

4.7.4 Pembagian Kelompok Penelitian

Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan yang masing - masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus bunting.

1. Kelompok Kontrol

Tanpa diberi suplementasi besi (Fe).

2. Kelompok Perlakuan

- a. Perlakuan 1: diberi suplementasi besi (Fe) dengan dosis pada manusia sebanyak 30mg/hari (0,54mg/200g BB pada tikus).
- b. Perlakuan 2: diberi suplementasi besi (Fe) dengan dosis pada manusia sebanyak 60mg/hari (1,08mg/200g BB pada tikus).
- c. Perlakuan 3: diberi suplementasi besi (Fe) dengan dosis pada manusia sebanyak 120mg/hari (2,16mg/200g BB pada tikus).

4.7.5 Penentuan Dosis

Dosis suplementasi besi (Fe) yang digunakan terdiri dari 3 kelompok perlakuan dosis yaitu: 30mg, 60mg, 120mg. Masing-masing dikonversikan menjadi dosis untuk tikus dengan satuan faktor konversi 0,018 untuk tikus dewasa dengan berat 200gr, seperti pada tabel berikut; (Laurence dan Bacharach, 1994).

Tabel 4.2 Tabel Konversi Dosis

Dicari Diketahui	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 1,5 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,23	27,80	29,7	64,10	124,20	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,20	9,20	17,80	56,0
Marmut 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,40	5,20	10,20	31,50
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,40	4,50	14,20
Kucing 1,5 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,20	4,10	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,43	0,1	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	1,24	0,52	1,0	3,10
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

Keterangan: Konversi dosis dari hewan percobaan dengan manusia (Laurence dan Bacharach, 1964).

Berdasarkan tabel tersebut dari dosis pada manusia dikonversikan menjadi dosis pada tikus sehingga didapatkan dosis sebagai berikut:

1. Dosis suplementasi besi (Fe) sebanyak 30mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200 g menjadi = 0,018

$$\text{Fe (200g)} = 0,018 \times 30\text{mg} = 0,54\text{mg}/200\text{gBB.}$$
2. Dosis suplementasi besi (Fe) sebanyak 60mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200 g menjadi = 0,018

$$\text{Fe (200g)} = 0,018 \times 60\text{mg} = 1,08\text{mg} /200\text{gBB.}$$
3. Dosis suplementasi besi (Fe) sebanyak 120mg dikonversikan menjadi dosis untuk tikus 200g menjadi = 0,018

$$\text{Fe (200g)} = 0,018 \times 120\text{mg} = 2,16\text{mg}/200\text{g BB.}$$

4.7.6 Prosedur Pembuatan Sediaan

1. Gerus suplemen besi (Fe) hingga halus.
2. Larutkan suplemen besi (Fe) yang sudah halus dengan menggunakan akuades 100ml.
3. Tambahkan CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*), karena CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) memiliki fungsi untuk menghomogenkan larutan.

Pengenceran dilakukan dengan menggunakan labu ukur yang berukuran 100ml dan 10ml.

4.7.7 Prosedur Pemberian Suplementasi Besi (Fe)

Suplemen besi (Fe) yang sudah dilarutkan diberikan menggunakan *sprit* peroral menggunakan sonde pada kelompok tikus bunting selama 18 hari, mulai dari hari pertama kebuntingan sampai hari ke-18 kebuntingan.

4.7.8 Prosedur Pengambilan Lambung Tikus

Pada hari ke-19 kebuntingan tikus dibedah kemudian lambung tikus diambil dan dibersihkan untuk dijadikan preparat.

4.7.9 Pembuatan dan Pewarnaan Preparat Lambung Tikus

Pembuatan preparat histopatologi dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: organ lambung difiksasi dalam buffer formalin 10% selama 18 jam, organ lambung dipotong sempurna dengan ketebalan 2-3 mm. Potongan tersebut dimasukkan dalam tissue casset yang dilabel dan ditutup. Tahap selanjutnya yaitu dehidrasi, pembedahan (clearing), pembedahan (impregnasi/embedding), pengecoran (blocking), lalu didinginkan pada lempeng pendingin. Tahap selanjutnya adalah pemotongan (sectioning) dengan mikrotom, hasil pemotongan berupa pita tipis dimasukkan ke waterbath berisi air hangat lalu diambil dengan object glass yang diolesi albumin gliserin. Selanjutnya dilakukan inkubasi over night di inkubator. Tahap selanjutnya adalah pewarnaan (staining).

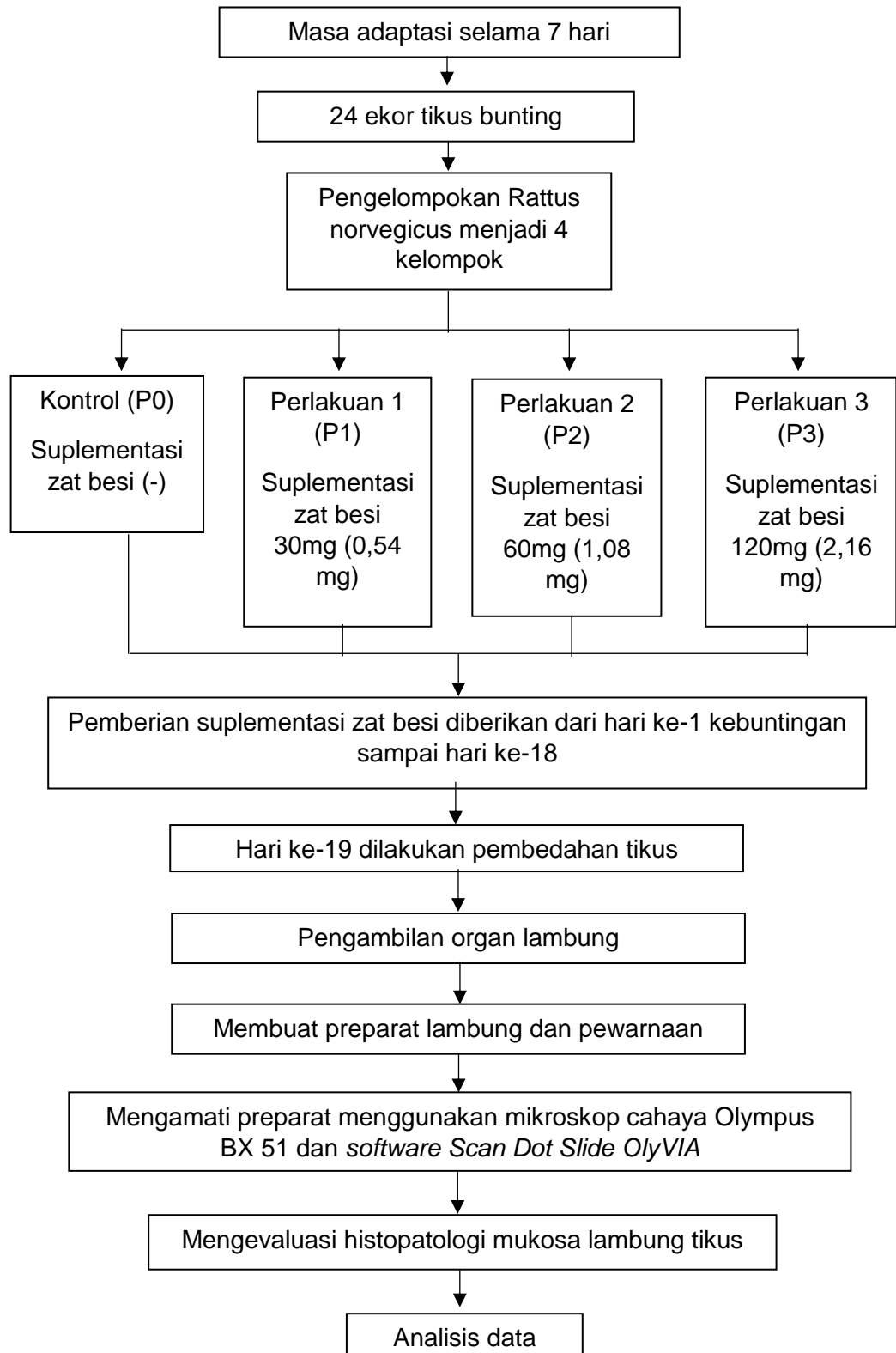
Prosedur pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) menggunakan *automatic staining* dengan deparafinisasi preparat yang telah kering dalam xylol sebanyak 3 kali (masing-masing selama 10-15 menit). Sampel lalu dimasukkan ke dalam alkohol 96% sebanyak 3 kali (masing-masing selama 5 menit). Sampel dicuci dengan air mengalir sampai alkohol hilang. Sampel dimasukkan ke dalam cat hematoksin selama 7-10 menit. Sampel dicuci dengan air mengalir sampai tidak luntur. Sampel dimasukkan ke dalam cat eosin selama 3-5 menit. Sampel dicuci dengan air mengalir. Dimasukkan ke dalam

larutan alkohol 1 kemudian dimasukkan ke dalam larutan alkohol 2. Dicuci dengan air mengalir. Dimasukkan ke dalam xylol. Tahap selanjutnya yaitu mounting yaitu dengan entellan lalu dilanjutkan dengan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX 51 dan *software Scan Dot Slide OlyVIA* dengan perbesaran 400x dalam 5 lapang pandang secara acak.

4.7.10 Prosedur Penguburan Hewan Coba

Setelah dilakukan pembedahan dan pengambilan organ, tikus dikubur dalam tanah dengan kedalaman 40cm di samping Laboratorium Farmakologi yang dibantu oleh petugas laboran.

4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

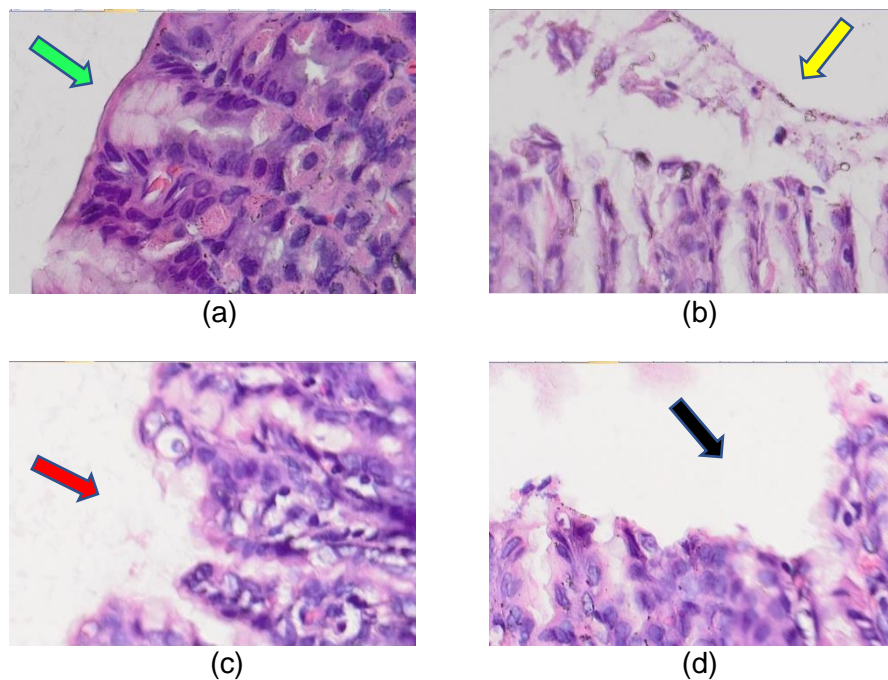
Data hasil penelitian disajikan dalam $\text{mean} \pm \text{SD}$, kemudian dianalisis dengan statistik parametrik menggunakan One Way ANOVA setelah memenuhi uji homogenitas varian dan uji normalitas data. Selanjutnya, dilakukan uji Post Hoc Tukey untuk mengetahui signifikansi hubungan antar kelompok perlakuan. Uji korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui seberapa kuat hubungan antar variable dan arah korelasi. Terakhir, dilakukan uji regresi linear untuk mengetahui presentasi kuat hubungan antara variable. Analisa data menggunakan program SPSS dengan derajat kepercayaan 95% dan $\alpha = 0,05$. Uji statistik dinyatakan signifikan apabila nilai $p < 0,05$.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA



5.1 Hasil Penelitian



Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi berpengaruh terhadap histopatologi mukosa lambung tikus bunting. Pengamatan ini dilakukan pada preparat lambung tikus dari 4 kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan yang mendapatkan suplementasi zat besi sesuai dengan dosis yang telah ditentukan dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Histopatologi mukosa lambung dinilai menggunakan modifikasi skor Barthel Manja (2003) yang dinilai menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX 1 dan *software Scan Dot Slide OlyVIA* dengan perbesaran 400x dalam 5 lapang pandang secara acak.



Gambar 5.1 Histopatologi Epitel Mukosa Lambung Tikus dengan Pewarnaan HE pada Perbesaran 400x, (a) Kelompok Kontrol; (b) Perlakuan 1; (c) Perlakuan 2; (d) Perlakuan 3

Keterangan panah :

 Sel epitel normal
 Deskuamasi epitel

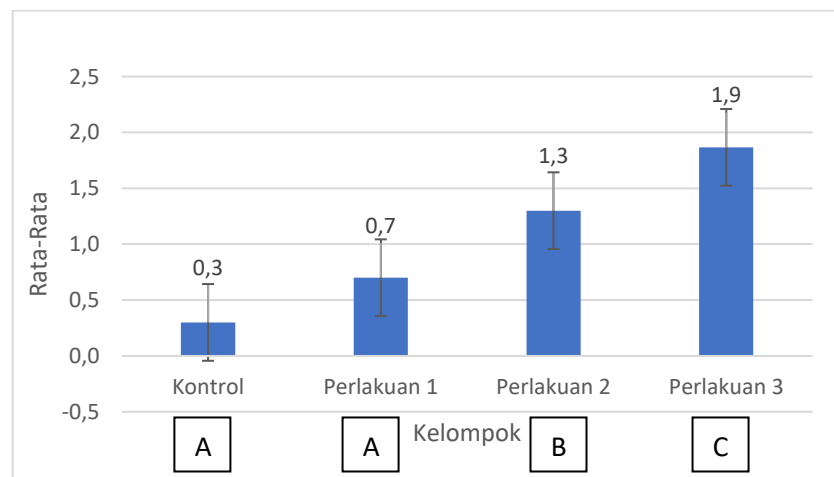
 Kerusakan 1-10 epitel
 Kerusakan >10 epitel

Keterangan :

- (a) Gambar ini menunjukkan kelompok kontrol tanpa pemberian suplementasi zat besi. Terlihat tidak ada kerusakan pada epitel.
- (b) Gambar ini menunjukkan kelompok perlakuan 1 yang diberi suplementasi zat besi dengan dosis 0,54 mg/200 gr BB. Terlihat deskuamasi epitel.
- (c) Gambar ini menunjukkan kelompok perlakuan 2 yang diberi suplementasi zat besi dengan dosis 1,08 mg/200 gr BB. Terlihat kerusakan 1-10 sel epitel.
- (d) Gambar ini menunjukkan kelompok perlakuan 3 yang diberi suplementasi zat besi dengan dosis 2,16 mg/200 gr BB. Terlihat kerusakan >10 sel epitel.

Tabel 5.1 Hasil Rata-Rata Skor Integritas Epitel Mukosa Lambung

No	Perlakuan	Nilai Rata-Rata Skor Integritas Epitel Mukosa Lambung \pm SD/5 Lapang Pandang
1	Tanpa pemberian suplementasi besi (Fe)	0,3 \pm 0,497468
2	Pemberian suplementasi besi (Fe) 0,54 mg/200g BB	0,7 \pm 0,731711
3	Pemberian suplementasi besi (Fe) 1,08 mg/200g BB	1,3 \pm 0,988601
4	Pemberian suplementasi besi (Fe) 2,16 mg/200g BB	1,9 \pm 1,013871

**Gambar 5.2 Grafik Nilai Rata-Rata Skor Integritas Epitel Mukosa Lambung**

Berdasarkan grafik di atas menunjukkan bahwa semakin tinggi nilainya, maka semakin tinggi juga kerusakan epitelnya. Pada grafik diketahui bahwa kerusakan terendah pada kelompok kontrol dan kerusakan tertinggi pada kelompok perlakuan 3. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis yang diberikan, maka semakin besar kerusakan yang terjadi. Antara kelompok kontrol dan perlakuan 1 perbedaannya tidak signifikan karena masih berada pada satu rentangan garis.

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Setiap data yang diperoleh harus dilakukan uji normalitas dan homogenitas varian terlebih dahulu sebelum diuji menggunakan One Way ANOVA. Data yang diuji dengan One Way ANOVA harus memiliki distribusi normal dan varian yang sama atau homogen. Uji normalitas yang digunakan adalah Shapiro-Wilk Test yang menunjukkan hasil data penelitian ini normal atau signifikan yaitu 0.180 ($p > 0.05$) yang dapat disimpulkan bahwa data skor integritas epitel mukosa terdistribusi normal. Sedangkan uji homogenitas yang digunakan adalah Levene Test yang menunjukkan hasil data 0.827 ($p > 0.05$) yang dapat disimpulkan bahwa data skor integritas epitel mukosa dari penelitian ini memiliki varian data homogen.

5.2.2 Uji One Way ANOVA

Uji One Way ANOVA dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan pada sel epitel dari empat kelompok. Perbedaan dinyatakan signifikan jika $p < 0.05$. Dari uji One Way ANOVA didapatkan hasil 0.000 sehingga dapat dikatakan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada sel epitel masing-masing kelompok. Uji Post Hoc Tukey dapat dilakukan setelah uji One Way ANOVA memiliki hasil yang signifikan.

5.2.3 Uji Post Hoc Tukey

Uji Post Hoc Tukey dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan integritas epitel antara masing-masing kelompok. Hasil uji Post Hoc Tukey menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan sel epitel yang signifikan antara kelompok kontrol dan perlakuan 1. Perbedaan sel epitel yang signifikan terlihat antara kelompok kontrol, perlakuan 2 dan 3.

5.2.4 Uji Korelasi Pearson

Uji Korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui seberapa kuat hubungan antara kedua variabel (suplementasi zat besi terhadap histopatologi mukosa lambung) dan arah korelasinya. Dari uji tersebut didapatkan nilai yang signifikan sebesar 0.000 ($p < 0.05$) yang menunjukkan bahwa adanya korelasi yang signifikan antara variabel independen (pemberian dosis suplementasi zat besi) terhadap variabel dependen (sel epitel). Koefisien Korelasi Pearson bernilai positif (+) berarti korelasinya searah yang artinya semakin tinggi dosis suplemen zat besi, maka semakin tinggi kerusakan epitel yang dapat dinilai menggunakan skor integritas epitel Bathel Manja.

5.2.5 Uji Regresi Linear

Uji Regresi Linear digunakan untuk menganalisa besarnya pengaruh variabel independen (suplementasi besi) terhadap variabel dependen (histopatologi mukosa lambung), jika dibandingkan dengan faktor eksternal (misalnya variasi individu, keadaan psikologis tikus, atau pengaruh pakan tikus). Nilai R^2 (R

square) pada penelitian ini (lampiran 6) menunjukkan bahwa 77,8% ($R^2 \times 100\%$) dari histopatologi mukosa lambung dipengaruhi oleh suplementasi besi. Sedangkan 22,2% dipengaruhi oleh faktor eksternal.

Untuk mengurangi bias dari hasil pengamatan, dilakukan dengan memberikan kode pada setiap sampel dan mencatat hasil pengamatan secara keseluruhan. Setelah selesai dilakukan pengamatan pada seluruh sampel lalu dilihat bagaimana skor yang ada pada setiap kelompok perlakuannya.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh suplementasi zat besi pada histopatologi mukosa lambung yang dinilai menggunakan skor integritas epitel Barthel Manja (2003). Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan yang diberikan suplemen zat besi dengan dosis 0,54 mg/200 gr BB, 1,08 mg/200 gr BB, dan 2,16 mg/200 gr BB.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dengan uji Shapiro-Wilk Test dengan nilai $p > 0.05$ dan memiliki varian data yang homogen dengan uji Levene Test dengan nilai $p > 0.05$. Pada uji One Way ANOVA hasil dari penelitian ini menunjukkan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pada skor integritas epitel mukosa lambung antar kelompok. Hasil uji Post Hoc Tukey menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada skor integritas epitel mukosa antar kelompok, kecuali kelompok kontrol dan perlakuan 1. Uji Korelasi Pearson menunjukkan nilai $r = 0.882$ yang berarti data korelasi positif yang sangat kuat, artinya semakin tinggi dosis yang diberikan, maka semakin tinggi juga kerusakan epitel yang dinilai menggunakan skor Barthel Manja. Hasil uji Regresi Linear menunjukkan bahwa suplementasi besi memiliki pengaruh 77,8% terhadap histopatologi mukosa lambung, 22,2% lainnya dipengaruhi oleh faktor eksternal yang tidak diteliti, seperti keadaan psikologis tikus, pengaruh pakan tikus, atau bakteri *Helicobacter pylori*.

Berdasarkan uraian hasil penelitian tersebut, pemberian suplementasi zat besi (Fe) dosis tinggi dapat berpengaruh terhadap histopatologi mukosa lambung

dan hal ini membuktikan bahwa penelitian ini mendukung hipotesis, yaitu terdapat perbedaan yang bermakna pada histopatologi mukosa lambung yang dinilai menggunakan skor Barthel Manja setelah pemberian suplementasi besi selama 18 hari.

Kerusakan pada sel epitel mukosa lambung terjadi karena pembentukan radikal bebas yang disebabkan dari suplementasi zat besi (Perdana, 2015). Pembentukan radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya peningkatan *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang nantinya akan memicu stres oksidatif. Stres oksidatif merupakan suatu kondisi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan antioksidan sebagai sistem pertahanan di dalam tubuh yang akan menghasilkan kerusakan oksidatif seperti peroksidasi lipid. Terjadinya peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan pada mukosa lambung (Powers and Jackson, 2008).

Mukosa Lambung secara alami memproduksi prostaglandin (PGE₂) yang dapat menghambat sekresi asam lambung. Zat besi dapat menghambat produksi dari prostaglandin. Terhambatnya sintesis prostaglandin di dalam lambung akan meningkatkan sekresi asam, dan memutuskan pertahanan mukosa lambung (Hisakawa, 1998). Kondisi tersebut dapat menyebabkan terjadinya iritasi pada lambung dan mengakibatkan kerusakan pada mukosa, sel parietal, dan sel endotel.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rachma, setelah pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi terlihat adanya ulkus dan perforasi pada lambung tikus yang dilihat secara makroskopis. Dosis dari suplementasi yang mempengaruhi keadaan lambung yang dapat dilihat secara makroskopis adalah 1,08mg/200grBB.

Selain itu, Mc Crea pada tahun 2013 mengemukakan bahwa dosis Fe >20 mg/kgBB dapat menyebabkan keracunan dengan tingkatan sedang sampai berat tetapi belum menimbulkan kerusakan, pada dosis >60 mg/kgBB dapat menimbulkan kerusakan, dan dosis 150 mg/kgBB dapat mengakibatkan kematian yang diakibatkan kerusakan organ-organ dalam tubuh.

Studi kasus yang dilakukan Marginean terkait konsumsi suplementasi besi yang menyebabkan terjadinya kerusakan pada lambung yang dilihat secara biopsi dan juga histologi ditemukan adanya bakteri *Helicobacter pylori*. Tetapi pada studi kasus yang dilakukan Melit tidak ditemukan adanya bakteri *Helicobacter pylori*. Selain karena bakteri, menurut penelitian yang dilakukan Maulidiyah pada tahun 2006, stres dapat memicu lambung untuk mengeluarkan asam lambung secara berlebihan dan menyebabkan iritasi mukosa lambung bahkan dapat memicu kebocoran lambung.

Ditemukan adanya kerusakan pada mukosa lambung, ibu hamil dianjurkan untuk memenuhi kebutuhan zat besi selain dari suplementasi besi (Fe) dapat juga bersumber dari makanan seperti daging, ayam, ikan, telur, kacang-kacangan, sayuran hijau dan beberapa jenis buah. Selain itu, suplementasi besi (Fe) perlu diimbangi dengan Vitamin C karena Vitamin C merupakan antioksidan yang dapat mengurangi radikal bebas dan membantu penyerapan zat besi.

Keterbatasan penelitian ini terdapat pada pemberian suplementasi zat besi pada tikus yang berbeda pada setiap pemberiannya. Hal ini berpengaruh pada hasil interpretasi dikarenakan setiap hewan coba juga mengalami perbedaan kondisi. Kemungkinan kesalahan dalam teknik pengambilan organ dapat menyebabkan kerusakan organ.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian mengenai pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi terhadap histopatologi mukosa lambung didapatkan hasil bahwa:

1. Pemberian suplementasi besi (Fe) dosis tinggi memiliki pengaruh terhadap histopatologi mukosa lambung tikus.
2. Pemberian suplementasi besi (Fe) dengan dosis 0,54mg/200grBB dari penelitian sudah memberikan efek kerusakan pada sel epitel mukosa lambung.

7.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan dan kesimpulan yang didapat, saran yang dapat diberikan sebagai berikut.

1. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai suplementasi besi (Fe) terhadap histopatologi lambung yang lebih mendalam.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bakteri *Helicobacter pylori* pada lambung yang diberikan suplementasi besi (Fe).
3. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai suplementasi besi (Fe) terhadap variabel yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed F, Khan MR, Jackson AA. *Concomitant Supplemental Vitamin A Enhances the Response to Weekly Supplemental Iron and Folic Acid in Anemic Teenagers In Urban Bangladesh*. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001; 74(1):108-15.
- Almatsier, S. 2004. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Umum.
- Arisman, 2010. *Gizi Dalam Daur Kehidupan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Bakta, I Made. 2006. *Hematologi Klinik Ringkas*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Floch BMH, Hospital N, Neil R. 2010. *Netter' s Gastroenterology 2nd ed*. Philadelphia: Saunders.
- Halliwell, B., & J.M.C. Gutteridge. 2001. *Free Radicals in Biology and Medicine*. New York: Oxford University Press.
- Hidayat, A. Aziz Alimul. 2008. *Pengantar Ilmu Kesehatan Anak untuk Pendidikan Kebidanan*. Jakarta : Salemba Medika.
- Hisakawa, Naoko, Koji Nishiya, Kiyoshi Tahara, Akinori Matsumori and Kozo Hashimoto. 1998. *Down regulation by iron of prostaglandin E2 production by human synovial fibroblasts*. Japan: Second Department of Internal Medicine, Kochi Medical School, Nankoku City 783–8505.
- Laurence dan Bacharach. 1964. Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, cit: Ngatidjan. 1990. *Metode Laboratorium dalam Toksikologi*. Reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- Manja Barthel, et all. 2003. *Pretreatment of Mice with Streptomycin Provides a Salmonella enterica Serovar Typhimurium Colitis Model That Allows Analysis of Both Pathogen and Host*. *Infect. Immun.* 71(5): 2839-58.
- Marginean, Esmeralda C. MD; Bennick, Michael MD; Cyczk, Jan MD; Robert, Marie E. MD; Jain, Dhanpat MD. 2006. Gastric Siderosis: *Patterns and Significance*. *The American Journal of Surgical Pathology*. Vol.30. Issue 4. P 514-20.
- Maulidiyah U. *Hubungan Antara Stres dan Kebiasaan Makan dengan Terjadinya Kekambuhan Penyakit Gastritis*. 2006. [Skripsi]. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Mc Crea, Sarah, Bates, Nicola. 2013. *Acute Iron Overdose: Clinical Features and Management*. Health & Medical Collection pg. 18. London.

- Melit, Lorena Elena, Marginean, Cristina Oana, Mocanu, Simona, Marginean, Maria Oana. 2017. *A rare case of iron-pill induced gastritis in a female teenager*. A case report and a review of the literature. *Medicine*. 96(30):e7550.
- Mescher, Anthony L. 2011. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas twelve edition*. United States of America : Mcgraw Hill Company.
- Myers, P., Armitage D. 2004. *Rattus norvegicus*, Animal Diversity Web. http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Rattus_norvegicus.html yang diakses pada tanggal 1 Agustus 2018.
- Nurhidayati, Rohman Dyah. 2013. *Analisis Faktor Penyebab Terjadinya Anemia pada Ibu Hamil Diwilayah Kerja Puskesmas Tawang Sari Kabupaten Sukoharjo*. Surakarta: Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Paravicini TM, Touyz RM. 2008. *NADPH Oxidases, Reactive Oxygen Species, and Hypertension*. *Diabetes Care*, 31(2): S170-S180.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 88 Tahun 2014 Tentang Standart Tablet Tambah Darah Bagi Wanita Usia Subur dan Ibu Hamil.
- Perdana, Waldy Yudha, Danny Jaya Jacobus. 2015. *Cermin Dunia Kedokteran 235 Hepcidin dan Anemia Defisiensi Besi*. Volume 42, No. 12. Jakarta : i3L (Indonesia International Institute for Life Sciences).
- Powers, S.K., Jackson, M.J. 2008. *Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production*. *Physiol Rev*, 88, 1243-76.
- Price, A. Sylvia, Lorraine Mc. Carty Wilson. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Riset Kesehatan Dasar 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan RI Tahun 2013.
- Sediaoetama, Achmad Djaeni. 2004. *Ilmu Gizi untuk Mahasiswa dan Profesi*. Edisi Kelima. Jakarta: Dian Rakyat.
- Sherwood, Laura lee. 2011. *Fisiologi Manusia*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Silvia, G.A. 2011. *Pengaruh Suspensi Sari Akar Manis terhadap Perkembangan Janin pada Mencit Bunting*. Jakarta: FMIPA Universitas Indonesia.
- Sirois. 2005. *Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures*. Elsevier. USA.
- Soeparman. 1990. *Ilmu Penyakit Dalam Jilid II*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.

- Suardana, Ketut. 2012. *Peran Stress Oksidatif pada Abortus*. Denpasar: FK Universitas Udayana.
- Sue Jordan, dkk. 2014. *Farmakologi kebidanan*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Supranto J., 2000. *Statistik (Teori dan Aplikasi)*. Edisi Keenam, Jakarta : Erlangga.
- Susiloningtyas, is. 2012. *Pemberian Zat Besi (Fe) dalam Kehamilan*. Majalah Ilmiah Sultan Agung Vol 50 No 128. Semarang: Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
- Waryana. 2010. *Gizi Reproduksi*. Pustaka Rihama : Yogyakarta.
- Widowati, W., dkk. 2008. *Efek Toksik Logam*. Yogyakarta : Penerbit ANDI
- Wiknjosastro, Hanifa. 2010. *Ilmu Kandungan*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.

Lampiran 1

SURAT KELAIKAN ETIK

	<p>KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS BRAWIJAYA FAKULTAS KEDOKTERAN KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN</p> <p>Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia Telp. (062) (0341) 551611 Ext. 388; 569117; 567192 - Fax. (062) (0341) 564755 http://www.fkub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id</p>
<p>KETERANGAN KELAIKAN ETIK ("ETHICAL CLEARANCE")</p> <p>No. 285 / EC / KEPK – S1 – KB / 11 / 2018</p> <p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN</p>	
JUDUL	: Pengaruh Pemberian Suplementasi Besi (Fe) Dosis Tinggi terhadap Peningkatan Kadar Glukosa Darah, Kondisi Makroskopis Lambung, Keadaan Plasenta, Kondisi Sel Beta Pankreas, Gambaran Sel Epitel Lambung, dan Gangguan Pertumbuhan pada Bayi Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Strain Wistar Bunting.
PENELITI	: Indah Nur Afifah Zalfaa Velia Aqqilah Safna Wahyuni Dyah Aulia Perwitasari Rachma Ayu Difa Pratiwi Alfin Septia Putri Aldi
UNIT / LEMBAGA	: S1 Kebidanan – Fakultas Kedokteran – Universitas Brawijaya Malang.
TEMPAT PENELITIAN	: Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
DINYATAKAN LAIK ETIK.	
<p>Malang, Ketua,</p> <p></p> <p>Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjud ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum. Dr(Hk) NIK. 160746683</p>	
<p>Catatan : Keterangan Laik Etik ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).</p>	

Lampiran 2

HASIL UJI STATISTIK

Uji Normalitas Data

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Integritas Mukosa	.186	24	.032	.942	24	.180

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Integritas Mukosa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.297	3	20	.827

Uji One Way ANOVA

ANOVA

Integritas Mukosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.485	3	2.828	26.269	.000
Within Groups	2.153	20	.108		
Total	10.638	23			

Uji Post Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Integritas Mukosa

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol	P1	-.4000	.18944	.184	-.9302	.1302
	P2	-1.0000*	.18944	.000	-1.5302	-.4698
	P3	-1.5667*	.18944	.000	-2.0969	-1.0364
P1	Kontrol	.4000	.18944	.184	-.1302	.9302
	P2	-.6000*	.18944	.023	-1.1302	-.0698
	P3	-1.1667*	.18944	.000	-1.6969	-.6364
P2	Kontrol	1.0000*	.18944	.000	.4698	1.5302
	P1	.6000*	.18944	.023	.0698	1.1302
	P3	-.5667*	.18944	.034	-1.0969	-.0364
P3	Kontrol	1.5667*	.18944	.000	1.0364	2.0969
	P1	1.1667*	.18944	.000	.6364	1.6969
	P2	.5667*	.18944	.034	.0364	1.0969

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Integritas Mukosa

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
Kontrol	6	.3000		
P1	6	.7000		
P2	6		1.3000	
P3	6			1.8667
Sig.		.184	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

Uji Korelasi Pearson

Correlations

		Dosis	Integritas Mukosa
Dosis	Pearson Correlation	1	.882**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	24	24
Integritas Mukosa	Pearson Correlation	.882**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Uji Regresi Linear

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.882 ^a	.778	.768	.32738

a. Predictors: (Constant), Dosis

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	8.280	1	8.280	77.259	.000 ^a
	Residual	2.358	22	.107		
	Total	10.638	23			

a. Predictors: (Constant), Dosis

b. Dependent Variable: Integritas Mukosa

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	.347	.104		3.349	.003
	Dosis	.735	.084	.882	8.790	.000

a. Dependent Variable: Integritas Mukosa

Lampiran 3

HASIL SKORING PREPARAT HISTOLOGI BERDASARKAN MODIFIKASI SKOR BARTHEL MANJA

Kelompok	No Tikus	Skor Integritas Mukosa Gaster					Rata-Rata Skor/5 Lapang Pandang
		LP1	LP2	LP3	LP4	LP5	
Kontrol	1	1	0	0	0	0	0,2
	2	0	1	0	1	0	0,4
	3	0	1	0	0	1	0,4
	4	0	0	0	1	0	0,2
	5	0	0	1	0	0	0,2
	6	0	1	0	0	1	0,4
Perlakuan 1	1	1	2	0	1	0	0,8
	2	1	1	0	0	0	0,4
	3	0	0	1	1	0	0,4
	4	0	0	1	0	3	0,8
	5	1	1	2	1	0	1,0
	6	0	1	1	1	1	0,8
Perlakuan 2	1	2	3	2	1	2	2,0
	2	2	2	3	1	0	1,6
	3	1	0	2	0	0	0,6
	4	1	2	0	0	1	0,8
	5	1	2	0	2	1	1,2
	6	3	3	2	0	0	1,6
Perlakuan 3	1	3	2	1	3	0	1,8
	2	2	1	3	2	2	2,0
	3	3	1	2	2	3	2,2
	4	3	3	1	2	1	2,0
	5	3	2	1	0	1	1,4
	6	3	1	3	1	1	1,8

Lampiran 4

DOKUMENTASI PENELITIAN



Gambar 1. Proses Pembuatan Sediaan Fe



Gambar 2. Kondisi Kandang Tikus Selama Penelitian



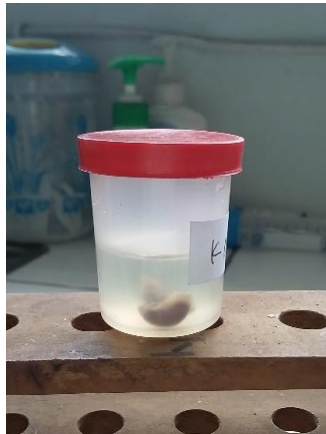
Gambar 3. Penimbangan Tikus



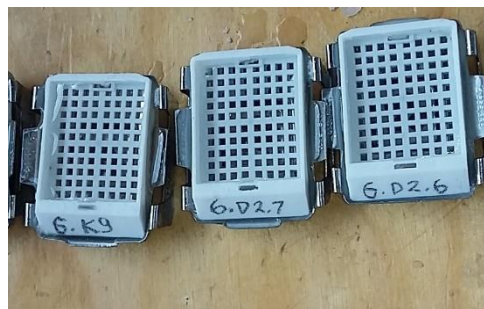
Gambar 4. Penyondean Larutan Fe



Gambar 5. Pembedahan Tikus



Gambar 6. Lambung Difiksasi Dalam Formalin 10%



Gambar 7. Parafin Blok Organ



Gambar 8. Pemotongan untuk dijadikan slide



Gambar 9. Pewarnaan HE

Lampiran 5

CURRICULUM VITAE

Nama	: Dyah Aulia Perwitasari
NIM	: 155070601111007
Jurusan/Angkatan	: Kebidanan/2015
Tempat/Tanggal Lahir	: Madiun, 23 Juli 1997
Jenis Kelamin	: Perempuan
Alamat Asal	: Jl. Muria No 46 RT/RW 005/002 Kota Madiun
Alamat di Malang	: Jl. M.T. Haryono 139A , Malang
Status	: Mahasiswa
Hobi	: Traveling, kuliner
Motto Hidup	: Selesaikan apa yang sudah kamu mulai
No. HP	: 085784938352
Email	: dyahuliuli23@gmail.com



Orang Tua

Nama Ayah	: K.W. Setiabudi
Nama Ibu	: Ulin Nugraha Sari
Saudara	: Sinta Wahyu Ainun Nisa

Riwayat Pendidikan

- | | |
|-------------------------------|-----------------------|
| 1. TK RA Masyithoh | (Tahun 2002-2003) |
| 2. MI ISLAMIYAH 03 | (Tahun 2003-2009) |
| 3. SMP Negeri 4 Madiun | (Tahun 2009-2012) |
| 4. SMA Negeri 2 Madiun | (Tahun 2012-2015) |
| 5. Program Studi S1 Kebidanan | (Tahun 2015-sekarang) |
- Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya